

Embryonální buňky uvnitř blastocysty, které se dále dělí a diferencují v buňky všech tkání organismu se nazývají embryonální kmenové (ES) buňky. Využití lidských ES buněk formou transplantací je jednou z možných cest regenerativní medicíny.

Předložená práce zahrnuje studium 2 různých linií myších pluripotentních buněk - embryonálních karcinomových buněk (EC) P19 a ES buněk linie D3. Buňky jsme kultivovali v základním kultivačním médiu s fetálním bovinním sérem (FBS) a navíc u ES buněk s leukemickým inhibičním faktorem (LIF). Tyto složky zajišťují jejich pluripotenci a sebeobnovu. Následovala jejich neurodiferenciace změnou kultivačního média, bez FBS a u ES buněk i bez LIF. Naopak do média byla přidávána k indukci neurodiferenciace retinová kyselina (RA) a u ES buněk byla navíc zařazena kultivace embryoidních tělísek (EBs). Pluripotence a neurodiferenciace buněk byla ověřena molekulárně-biologickými metodami, kterými byly zjištěny u obou linií nediferencovaných buněk markery pluripotence a po jejich neurodiferenciaci přítomnost neuronálních markerů.

Následovaly transplantace, při nichž byly myší EC P19 buňky trvale transfekované genem pro zeleně fluoreskující protein (GFP) aplikovány do zdravého mozečku myší typu wild (WT) a postiženého mozečku myší typu Lurcher (Lc). Byly použity nediferencované buňky (P19) a od nich odvozené neuroprogenitory (NPG) a hodnoceno bylo přežívání, morfologie a lokalizace transplantátu. Přežívání obou typů GFP pozitivních transplantátů bylo srovnatelné a nezávislé na typu myši. Přežívání NPG i P19 buněk bylo významně nižší u myší Lc než u myší WT. Destrukce uvnitř transplantátu byly zjištěny pouze v transplantátech s NPG, expanze byla přítomna vždy po aplikaci P19 buněk a méně u NPG.

Transplantované buňky nemigrovaly a nešířily se v rámci mozečku. Fenotyp GFP pozitivních transplantovaných buněk byl prokázán imunohistochemicky přítomností neuronálních markerů. Z hlediska lokalizace se transplantát vyskytoval u myší WT převážně v mozečku, ale u myší Lc vždy mimo mozeček s neurodegenerací. LIF jsme se dále věnovali v širším kontextu – význam tohoto cytokinu v časně embryogenezi a tím pádem i v plodnosti je široce zkoumán nejen na buněčných liniích, ale i u lidí. Zkoumali jsme tedy i význam LIF na plodnost žen a věnovali jsme se přímé korelaci mutací v genu pro LIF s jejich plodností. Vyšetřovali jsme mutace v tomto genu jak v populaci infertilních žen, tak v kontrolní populaci zdravých plodných žen. U 15 neplodných žen byla nalezena identická mutace v exonu 3 na pozici 3400 genu pro LIF, která vede při translaci k záměně valinu za methionin v kodónu 64 (V64M), jež je součástí AB klíčky LIF proteinu, klíčové oblasti v interakci s receptorem pro LIF. Následně byl zkoumán vliv této mutace na úspěšnost léčby neplodnosti těchto žen ve srovnání se skupinou neplodných žen bez přítomnosti mutace.